

## S. newington と同一抗原構造を有する乳糖 分解菌における O 抗原変換

(サルモネラにおける抗原の人工変換 XIII)

水 島 宣 昭

札幌医科大学微生物学教室 (主任 植竹教授)

### Antigenic Conversion in Coliform Bacteria with the Complete Antigens of *Salmonella newington* (Changes Induced in the Antigens of *Salmonella* XIII)

By

NOBUAKI MIZUSHIMA

Department of Microbiology, Sapporo University of Medicine

(Chief: Prof. H. UETAKE)

1946 年 Seligmann と Saphra<sup>1)</sup> は脳膜炎で死亡した 6 箇月の乳児の脊髄液から *S. newington* と同一抗原構造をもち、乳糖を分解する菌株 (#2922) の分離を報告したが、さらに 1947 年<sup>2)</sup> 胃腸炎の男子の糞便から分離された類似の菌株 (3534) を再び報告した。

ところで E 群サルモネラにおいては抗 15 因子血清により 3, 15→3, 10<sup>3)</sup>~<sup>10)</sup> 或は 3, 15→(1), 3, 10, (19) 或は 1, 3, 15, 19→1, 3, 19 の O 抗原変換が起り<sup>9)</sup>~<sup>11)</sup>、また O 抗原因子 15 をもつ E<sub>2</sub> 群、E<sub>3</sub> 群 (旧 E<sub>2</sub> 群) の菌株から得られる ε phage (3, 10→3, 15 の抗原変換に関与する phage を ε と記す) により 3, 10→3, 15<sup>12)</sup>~<sup>15)</sup> 或は (1), 3, 10, (19)→3, 15<sup>16)</sup>~<sup>19)</sup> の O 抗原変換、或は ε phage と抗血清の併用により 1, 3, 19→1, 3, 15, 19<sup>17)</sup> の O 抗原変換が起ることが最近知られてきた。

そこで教室では Dr. Saphra より上記 2 菌株の分与を受け、E 群サルモネラにおける同様の現象が見られるかどうかをしらべることとなつた。本報告は著者の分担した O 抗原変換に関与する部分の記載である。

#### 実験材料並びに方法

1. 使用菌株: サルモネラ E<sub>1</sub>, E<sub>2</sub>, E<sub>3</sub>, E<sub>4</sub> 群の菌株はすべて国際標準株で、日本腸内細菌委員会から分与されたものである。

#2922 株及び 3534 株はアメリカの Dr. Saphra 氏より分与を受けたものである。この菌株から micromanipula-

tor を用いて単個菌を分離した。#2922 株よりは乳糖を速かに分解する (5 時間位) 菌株とおくれて (24 時間位) 分解する菌株を得たので、前者を #2922 L 株、後者を #2922 I 株として使用した。また 3534 株では 24 時間後に乳糖を分解する菌株を 3534 L 株とし、21 日後にも分解しない菌株を 3534 I 株として用いた。

2. 免疫血清: O 血清も H 血清も通常の方法で作製した<sup>16)</sup>~<sup>19)</sup>。吸収試験或は因子血清を作るのにも所定の方法で行つた<sup>16)</sup>~<sup>19)</sup>。

抗 phage 血清は同僚土屋及び内田から分与を受けた。

3. Phage: 溶原菌からの phage の分離並びに力価の強い phage を得る方法は大体中川の報告に従い<sup>14)</sup>、溶菌斑単個分離で単離した phage を使用した。

4. Phage による抗原変換の誘導: 各 phage 浮游液をブイオンと 1: 10 の割に混合した培地に培養した。変換株の検索法は実験の所で述べる。

5. 抗血清による抗原変換: *S. newbrunswick* O 血清を *S. london* で吸収して 15 因子血清を作り、また 10 因子血清は *S. anatum* O 血清を *S. newbrunswick* で吸収して作つた。各因子血清をブイオンで稀釈して変換用培地として継代培養を行つた。

6. 溶菌の判定法: 1) phage を加えたブイオンで培養した場合の可検菌の濁濁度でしらべた。2) phage 浮游液を平板寒天に線状に塗抹し、その上に可検菌を交叉塗抹して

\* この研究には文部省科学研究費の補助を受けた (植竹)。

本論文の一部は第 28 回日本細菌学会総会 (1955 年 4 月) 及び総合研究“微生物の遺伝学”研究班第 5 回班会議 (1955 年 7 月) で発表した。

溶菌が認められるか否かでも判定した。

7. 単菌分離培養法: Peterfi 型の micromanipulator を使用し、術式は許<sup>20)</sup>, 中島<sup>21)</sup>, 中村<sup>22)</sup>等の方法を参照した。

### 実験成績

#### 1) 抗菌血清による 3, 15→3, 10 の抗原変換

#2922 L 株では 15 因子血清加 ブイオン (血清は 16 倍稀釈となる) で継代培養 7 代目において、10 因子血清には凝集し、15 因子血清には凝集しない集落を 21 個中 1 個見出し、これに #2922 LA 株と記号をつけた。また 3534 L 株では 8 代目において、所期の集落を 14 個中 1 個見出し、これに 3534 LA 株と記号をつけた。また 3534 I 株では 6 代目で 15 個中 4 個を得、その一つに 3534 IA 株と記号をつけた。

#2922 I 株では 10 代継代したが、所期の集落は認められなかった。

#### 2) 抗 phage 血清による抗原変換の試み

#2922 L 株より得た phage (やはり 3, 10→3, 15 の抗原変換を E<sub>1</sub> 群サルモネラに起す) に対する免疫血清を S. anatum 及び #2922 L 株の 100°C 1 時間加熱死菌で吸収して、抗 3 抗体、抗 10 抗体及び抗 15 抗体を除いて、抗 phage 血清とし、これをブイオンに加えて (血清は 16 倍の稀釈となる)、継代培養を行つた。

#2922 L, #2922 I, 3534 L, 3534 I 株すべて継代培養 10 代に至るも依然 15 因子血清に凝集し、所期の集落は認められなかった。

また、S. kinshasa (3, 15) から得た ε phage に対する抗 phage 血清を用いた実験でも 3, 10 に抗原変換した集落を得ることは出来なかった。

#### 3) 試験管内凝集反応並びに吸収試験

#2922 LA, 3534 LA, 3534 IA 株について、抗 15 因子血清と、抗 10 因子血清とによる試験管内凝集反応の成績が Table 1 である。この Table からわかるように、原株はそれぞれ 15 因子血清で 640 倍稀釈まで凝集を示すが、変異株は 40 倍稀釈陰性であり、これに反し 10 因子血清では逆に原株は 40 倍陰性であるのに変異株は 320 倍稀釈まで凝集を示した。

次に E<sub>1</sub> 群 O 血清と E<sub>2</sub> 群 O 血清の混合血清を原株、変異株で吸収すると Table 2 (の一部) に示すような成績となる。それぞれ原株で吸収した場合には、15 因子抗体が吸収され、10 因子抗体が残るが、変異株でそれぞれ吸収した場合には、15 因子抗体が残り、10 因子抗体が吸収されることが知られる。

以上の成績から変異株は 10 抗原を持っているが、15 抗原は消失していることがわかる。

Table 1. "O" Tube Agglutination

Agglutininogen	O Serum	
	S. newbrunswick 5411	S. anatum
	Absorbed with	
	S. anatum	S. newbrunswick 5411
Agglutinins against		
	15	10
#2922 L	640	—
#2922 LA	—	320
#2922 LAa	640	—
3534 L	640	—
3534 LA	—	320
3534 LAa	640	—
3534 I	640	—
3534 IA	—	320
3534 IAa	640	—
S. newbrunswick 5411	1280	—
S. anatum	—	320

Notes: Figures indicate highest dilution at which agglutination occurred.

"—" indicates no agglutination at 1 to 40.

因に H 抗原構造は原株と同一であつた。

#### 4) 復元実験

a) S. newbrunswick 生菌で吸収して作つた抗 10 因子血清による復元

10 因子血清加 ブイオンで継代培養を行つた。

#2922 LA 株では継代培養 1 代目で 10 個の集落中 2 個が 15 因子血清に凝集し、10 因子血清には非凝集性であつた。

3534 LA 株では継代培養 1 代目に 10 個の集落中 9 個が、10 因子血清に非凝集性で 15 因子血清には凝集を示した。また、3534 IA 株では同じく 1 代目に所期の集落を 10 個中 8 個見出した。

b) S. newbrunswick 死菌で吸収して作つた抗 10 因子血清による復元

100°C 1 時間加熱した S. newbrunswick 5411 株で S. anatum O 血清を吸収して作つた抗 10 因子血清を用いた場合には、#2922 LA, 3534 LA 株及び 3534 IA 株はともに 10 代継代培養後の集落検索でも抗原構造 3, 15 の集落の出現は遂に認められなかった。

c) S. canoga phage による復元

#2922 LA 株は継代培養 1 代目で 15 個の集落中 4 個、3534 LA 株ではやはり 1 代目で 10 個の集落中 5 個、また 3534 IA 株では 1 代目に集落 10 個中 2 個が、それぞれ 10 因子血清には非凝集性で、15 因子血清にのみ凝集を示した。

Table 2. Absorption of Anti-*S. newbrunswick* "O" Serum plus Anti-*S. anatum* "O" Serum with Original and Variant Strains

Agglutinin	O Anti-gens	"O" Serum								
		S. newbrunswick plus S. anatum								
		Absorbed with								
		#2922 L	#2922 LA	#2922 LAa	3534 L	3534 LA	3534 LAa	3534 I	3534 IA	3534 IAa
#2922 L	3.15	—	640	—	—	640	—	—	640	—
3534 L		—	640	—	—	640	—	—	640	—
3534 I		—	640	—	—	640	—	—	640	—
S. newbrunswick 5411	3.15	—	640	—	—	640	—	—	640	—
#2922 LA	3.10	160	—	160	160	—	160	160	—	160
3534 LA		160	—	160	160	—	160	160	—	160
3534 IA		160	—	160	160	—	160	160	—	160
S. anatum	3.10	160	—	160	160	—	160	160	—	160
#2922 LAa	3.15	—	640	—	—	640	—	—	640	—
3534 LAa		—	640	—	—	640	—	—	640	—
3534 IAa		—	640	—	—	640	—	—	640	—
Remaining Antibodies against factor		10	15	10	10	15	10	10	15	10

Notes are the same as in Table 1.

Table 3. Biochemical Behaviours

Strains	Medium												Reaction								
	Peptone water plus																				
	Glucose	Lactose	Sucrose	Rhamnose	Mannitol	Salicine	Maltose	Xylose	Arabinose	Sorbitol	Trehalose	Dulcitol	Inositol	Citrate	Milk	Gelatin	Kligler §	M. R	V. P	Indol.	KCN
#2922 L	⊕	+	- <sup>21</sup>	+	+	- <sup>21</sup>	+	- <sup>21</sup>	+	+	+	+	- <sup>21</sup>	+	+	-	-	+	-	-	-
#2922 LA	⊕	+	- <sup>21</sup>	+	+	- <sup>21</sup>	+	- <sup>21</sup>	+	+	+	+	- <sup>21</sup>	+	+	-	-	+	-	-	-
#2922 LAa	⊕	+	- <sup>21</sup>	+	+	- <sup>21</sup>	+	- <sup>21</sup>	+	+	+	+	- <sup>21</sup>	+	+	-	-	+	-	-	-
3534 L	⊕	+	- <sup>21</sup>	+	+	- <sup>21</sup>	+	- <sup>21</sup>	+	+	+	+	- <sup>21</sup>	+	+	-	-	+	-	-	-
3534 LA	⊕	+	- <sup>21</sup>	+	+	- <sup>21</sup>	+	- <sup>21</sup>	+	+	+	+	- <sup>21</sup>	+	+	-	-	+	-	-	-
3534 LAa	⊕	+	- <sup>21</sup>	+	+	- <sup>21</sup>	+	- <sup>21</sup>	+	+	+	+	- <sup>21</sup>	+	+	-	-	+	-	-	-
3534 I	⊕	- <sup>21</sup>	- <sup>21</sup>	+	+	- <sup>21</sup>	+	+ <sup>15</sup>	+	+	+	+	- <sup>21</sup>	+	-	-	+	+	-	-	-
3534 IA	⊕	- <sup>21</sup>	- <sup>21</sup>	+	+	- <sup>21</sup>	+	+ <sup>15</sup>	+	+	+	+	- <sup>21</sup>	+	-	-	+	+	-	-	-
3534 IAa	⊕	- <sup>21</sup>	- <sup>21</sup>	+	+	- <sup>21</sup>	+	+ <sup>15</sup>	+	+	+	+	- <sup>21</sup>	+	-	-	+	+	-	-	-

The observations were continued for 21 days.

Notes: "+" indicates positive reaction; "-<sup>21</sup>" negative reaction.

⊕ In this column ⊕ indicates that Gas was produced.

§ In this column + indicates that H<sub>2</sub>S was produced.

そこで #2922 LA 株の復元株を #2922 LAa 株とし、3534 LA 株の復元株を 3534 LAa, 35341A 株の復元株を 35341Aa 株と記号をつけた。

### 5) 復元株の試験管内凝集反応及び吸収試験

復元株 #2922 LAa, 3534 LAa, 35341Aa は何れも 15 因子血清で凝集し、10 因子血清では凝集しない (Table 1)。また 15 因子抗体は吸収するが、10 因子抗体は吸収しない (Table 2)。即ちこれらの復元株は何れも、O 抗原構造が原株と同じ 3, 15 に復帰したことが知られる。

なお H 抗原構造には変化は認められなかった。

### 6) 原株、変異株、復元株と $\epsilon$ phage との関係

#### a) $\epsilon$ phage に対する感受性

$\epsilon$  phage として S. cambridge 及び S. canoga より分離されたそれぞれの phage と、#2922 L 株及び 3534 L 株より分離された phage (3, 10→3, 15 の抗原変換を起す) を用い、それぞれを加えたブイヨンに、原株、変異株、復元株を培養し、溶菌を受けるか否かをしらべた。

変異株は何れの phage によつても溶菌を受けたが、復元株と原株は溶菌を受けなかった。

#### b) $\epsilon$ phage の産生

#2922 L, 3534 L, 35341 株は何れも E<sub>2</sub> 群サルモネラと同様に 3, 10→3, 15 の抗原変換に与る phage を産生する (同僚内田が報告する予定)。

ところが O 抗原が 3, 10 に変異した #2922 LA, 3534 LA, 35341A 株からは、この  $\epsilon$  phage の産生は証明されなかった。しかし O 抗原が 3, 15 に復元した #2922 LAa, 3534 LAa, 35341Aa 株からは原株同様に  $\epsilon$  phage の産生が証明された (S. anatum と復元株をブイヨンで混合培養したその濾液から証明)。この際 #2922 LAa, 3534 LAa, 35341Aa 株は予め抗  $\epsilon$  phage 血清を通過させて後、溶原性検査に用いたから、 $\epsilon$  phage が附着 (carrier strain の形) していた可能性は否定出来る。

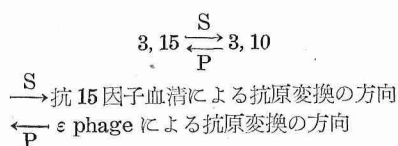
即ち、3, 15 の抗原構造をもつものは  $\epsilon$  phage を産生し、3, 10 の抗原構造のものは  $\epsilon$  phage を産生しないことが、この場合にも確められたことになる。

### 7) 生物学的性状

原株も、3, 10 の抗原構造の変異株も、復元株も生物学的性状は全く同じで、抗原構造の変異とは関係ないことが Table 3 から知られる。

### 総括並びに考按

以上 #2922 株及び 3534 株についての成績を括めると下のようになる。



即ち #2922 L, 3534 L, 35341 株は抗 15 因子血清によつて 3, 15→3, 10 の抗原変換を起すし、抗原変換を起して、3, 10 の抗原構造となつた変異株は  $\epsilon$  phage の感染を受けて、3, 15 の抗原構造に復帰することが示された。

3, 10→3, 15 の抗原変換 (復元) は  $\epsilon$  phage の感染によるものであつて (実験 4 の c), 抗 10 因子血清によるものではないと思われる (実験 4 の b)。実験 4 の a で 3, 10→3, 15 の抗原変換が証明されたのは、抗 10 因子血清を作る際吸収に用いた S. newbrunswick が生菌であつたから、抗 10 因子血清中に  $\epsilon$  phage が混入したためと解してよからう。復元株が  $\epsilon$  phage で溶原化されているという所見 (実験 6) も上の考えとよく符合する。

また 15 因子の形成が  $\epsilon$  phage による溶原性と不可分の関係にあることが立証されたが、この所見は E 群サルモネラにおける所見<sup>9-15)</sup>と全く一致するものである。

変異株、復元株の生物学的性状及び H 抗原は原株と全く同一であつて、抗原としては e, h; 1, 6 をもっている。

次に問題になるのは #29221 株が抗 15 因子血清で抗原変換しなかつたことである。同様の実験はさらに二度繰返されたが、遂に 3, 15→3, 10 の O 抗原変換は認められなかった。この原因はわからないが、実験方法の上から見て、余り強い発言は差控えるべきであろう。

また 3, 15→3, 10 の抗原変換が抗  $\epsilon$  phage 血清により認められなかった。この点は E 群サルモネラと異なる点であるが<sup>12), 23)</sup>、これも実験方法の性質上、強い発言は差控えた方がよいであろう。

以上要するに、生物学的性状の上では異つていても、E 群サルモネラと同じ O 抗原構造をもつ菌株では、E 群サルモネラにおけると全く同様に、15 因子血清により 3, 15→3, 10 の抗原変換が起り、 $\epsilon$  phage により 3, 10→3, 15 の抗原変換が起ることが証明されたのであつて、E 群サルモネラにおける抗原変換の所見に支持を与えるとともに興味ある所見を加えたものといえよう。

### 結 論

サルモネラ E<sub>2</sub> 群の S. newington と同一抗原構造をもつ #2922 株及び 3534 株では E<sub>1</sub> 群と E<sub>2</sub> 群サルモネラ間の O 抗原変換と同様に抗 15 因子血清によつて 3, 15→3, 10 の O 抗原変換が認められ、その変異株はまた、E<sub>2</sub> 群菌の産生する  $\epsilon$  bacteriophage によつて 3, 10→3, 15 の復元を起すことが認められた。

変異株、復元株の H 抗原構造及び生物学的性状は原株と同一である。

(昭和 31. 2. 6 受付)

### 文 献

- 1) Seligmann, E. & Saphra, I.: J. Immunol. **54**, 275-282 (1946).
- 2) Saphra, I. & Seligmann, E.: J. Bact. **54**, 270-271 (1947).
- 3) 植竹・小原: 日本細菌学雑誌 **5**, 164 (1950).
- 4) 小原: 札幌医紀要 **1**, 68-78 (1950).
- 5) 中川 (武): 北海道医誌 **28**, 13-14 (1951).
- 6) 植竹・等: 日本細菌学雑誌 **7**, 415 (1952).
- 7) 中川 (武): 札幌医誌 **4**, 386-394 (1953).
- 8) Uetake, H. et al.: J. Bact. **69**, 571-579 (1955).
- 9) 植竹: 日新医学 **24**, 214-224 (1955).
- 10) 秋葉: 札幌医誌 **7**, 96-106 (1955).
- 11) 秋葉: 日本細菌学雑誌 **10**, 883-891 (1955).
- 12) 井関・酒井: 医学と生物学 **28**, 193-196 (1953).
- 13) 植竹・中川・水島・秋葉: 日本細菌学雑誌 **9**, 682 (1954).
- 14) 中川 (武): 日本細菌学雑誌 **10**, 363-370 (1955).
- 15) 中川 (武)・土屋: 札幌医誌 **7**, 321-324 (1955).
- 16) 小島・八田: 食物中毒菌 (1941).
- 17) Edwards, P.R. & Bruner, D.W.: Serological Identification of Salmonella Culture (1942).
- 18) Kauffmann, F.: Enterobacteriaceae (1951).
- 19) 伝研学会: 細菌学実習提要 (1951).
- 20) 許: 実験医誌 **19**, 1374 (1935).
- 21) 中島: 実験医誌 **14**, 92 (1930).
- 22) 中村: 東京医事新誌 **2936**, 1713 (1953).
- 23) 中川・土屋・水島・植竹: 日本細菌学雑誌 **11**, 51-53 (1956).

### Summary

The strains #2922 and 3534 are lactose-fermenting and gram-negative rods with the complete antigens of *S. newington* which were donated by Dr. I. Saphra. The 0 antigens of these strains were first converted from 3, 15 to 3, 10 by exposure of the cultures to anti 15 monofactor serum and then reversed to the original structure 3, 15 by infection and lysogenization with the phages  $\epsilon$  which was isolated from *S. canoga* of Group  $E_2$ .

The antigenic variants, possessing 0 antigenic structure 3, 10, were confirmed as incapable of producing  $\epsilon$  phage, while the original strains and the reverted cultures were capable of producing  $\epsilon$  phage.

However, the antigenic conversion from 3, 15 to 3, 10 by exposure of the culture to anti- $\epsilon$  phage serum could not be demonstrated, contrary to the findings in Group  $E_2$  *Salmonella*.

The H antigens and the biochemical activities of the antigenic variants and the reverts were identical with those of the original strains, in so far as examined.

(Received Feb. 6, 1956)